



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Cardiologia

Novas perspetivas no tratamento da Miocardiopatia Hipertrófica

Sérgio Filipe Charrua Maltês

Março'2017



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Cardiologia

Novas perspetivas no tratamento da Miocardiopatia Hipertrófica

Sérgio Filipe Charrua Maltês

Orientado por:

Prof. Doutor Luís Miguel da Rocha Lopes

Março'2017

Resumo

A Miocardiopatia Hipertrófica (MCH) é uma doença cardíaca e uma causa major de insuficiência cardíaca e morte súbita. Apesar de ter sido inicialmente descrita há mais de 50 anos, a MCH sarcomérica ainda não apresenta uma terapêutica farmacológica específica de doença: os fármacos utilizados por rotina oferecem alívio sintomático mas não previnem ou revertem o fenótipo característico desta patologia. Os avanços no conhecimento relativo à genética e fisiopatologia da MCH permitiram, recentemente, descobrir e estudar novas abordagens genéticas e farmacológicas que, ao influenciarem diferentes vias envolvidas na MCH, têm o potencial de funcionar como terapêuticas modificadoras de doença. Estas novas e promissoras terapêuticas farmacológicas e genéticas serão o foco desta revisão.

Palavras-chave: Miocardiopatia hipertrófica; Terapêutica modificadora de doença; Tratamento farmacológico; Terapêutica genética

Abstract

Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is a heart disease and a major cause of heart failure and sudden death. Even though it was first described more than 50 years ago, sarcomeric HCM still lacks a disease-specific treatment: the drugs routinely used alleviate symptoms but do not prevent or revert the phenotypical hallmarks of this disease. With the advances in our knowledge about the genetics and pathophysiology of HCM, new genetic and pharmacological approaches have been recently discovered and studied that, by influencing different pathways involved in this illness, have the potential to function as disease-modifying therapies. These promising new pharmacological and genetic therapies will be the focus of this review.

Keywords: Hypertrophic cardiomyopathy; Disease-modifying therapy; Pharmacological treatment; Gene therapy

Índice

| | |
|--|-----------|
| Lista de Siglas e Abreviaturas | 1 |
| Introdução..... | 2 |
| Diltiazem | 4 |
| Inibidores da corrente tardia de sódio | 7 |
| Perhexilina | 8 |
| N-acetilcisteína | 11 |
| Estatinas..... | 13 |
| Inibidores do sistema renina-angiotensina-aldosterona | 15 |
| Moduladores da contratilidade do sarcômero..... | 19 |
| Terapêutica genética | 21 |
| Conclusão..... | 23 |
| Bibliografia | 24 |

Lista de Siglas e Abreviaturas

ARA- Antagonista dos Recetores da Angiotensina

ARM- Antagonista dos Recetores dos Mineralocorticóides

ATP- Adenosina Trifosfato

CPT- Carnitina-Palmitoil Transferase

HVE- Hipertrofia Ventricular Esquerda

HMG-CoA- 3-hidroxi-3-metilglutaril Coenzima A

IECA- Inibidor da Enzima Conversora da Angiotensina

I_{NaL}- Corrente tardia de sódio

MCH- Miocardiopatia Hipertrófica

mRNA- *messenger Ribonucleic Acid*

MYH6- Gene codificante da cadeia pesada da α -miosina

MYH7- Gene codificante da cadeia pesada da β -miosina

MYBPC3- Gene codificante da proteína C ligante da miosina

NAC- N-Acetilcisteína

SMaRT- *Spliceosome-mediated RNA trans-splicing*

SRAA- Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

TNNT2- Gene codificante da troponina T

Introdução

A Miocardiopatia Hipertrófica (MCH) é uma doença do miocárdio e uma causa major de morte súbita e insuficiência cardíaca ¹⁻⁴⁰. É definida como uma hipertrofia ventricular esquerda (HVE) não explicada por um aumento da pós-carga suficiente para causar a alteração observada ^{1-4,41}.

A doença afeta 1 em cada 500 indivíduos ¹⁻⁶. É, habitualmente, uma doença genética com transmissão autossômica dominante ¹⁻⁶. Atualmente encontram-se identificadas mais de 1500 mutações associadas à MCH em mais de 11 genes, sendo que a maioria afeta genes que codificam proteínas do sarcômero, como o gene codificante da cadeia pesada da β -miosina (*MYH7*) ou da proteína C ligante da miosina (*MYBPC3*) ¹⁻⁶. Pode ainda ser causada por outras doenças genéticas, como doenças metabólicas e neuromusculares hereditárias, ou por doenças não genéticas, como a amiloidose ^{1,3}.

Fenotipicamente caracteriza-se por HVE e, histologicamente, desorganização da arquitetura miocárdica com desarranjo de cardiomiócitos, aumento da espessura da parede das artérias coronárias intramurais e fibrose intersticial ^{1,2,5,9}. A hipertrofia habitualmente desenvolve-se durante a adolescência e está presente no início da idade adulta ^{2-6,11}.

O seu diagnóstico clínico é normalmente feito através da identificação imagiológica de um aumento não explicado da espessura da parede ventricular esquerda através da Ecocardiografia, Ressonância Magnética Cardíaca ou ambos ^{1,2,5,7,32,33}.

A apresentação clínica é heterogênea e pode iniciar-se em qualquer fase da vida ^{1,2,4-6}. Muitos dos indivíduos sobrevivem até idades avançadas com poucos ou nenhuns sintomas e sem necessidade de terapêuticas invasivas ^{1,2,4-6,9}. No entanto, os indivíduos afetados podem desenvolver sintomas e complicações associadas à doença, como morte súbita (com uma incidência anual inferior a 1%), insuficiência cardíaca, que se estima afetar cerca de 50% dos doentes, e fibrilhação auricular, presente em 25% dos casos e que conduz a um risco acrescido de eventos embólicos ¹⁻⁴². A doença apresenta uma taxa de mortalidade cardiovascular anual de 1-2 % ¹.

Neste momento, a terapêutica procura o alívio de sintomas e prevenção de complicações da doença ^{1,2,5-9,32,33}. Baseia-se na colocação de um Cardioversor-Desfibrilhador Implantável para prevenção de morte súbita, terapêutica farmacológica (ou ablação por radiofrequência) para controlo de fibrilhação auricular e prevenção de eventos embólicos e tratamento farmacológico ou miectomia

cirúrgica (ou, como alternativa, ablação septal por álcool) para alívio de obstrução do trato de saída do ventrículo esquerdo e de sintomas de insuficiência cardíaca ^{1,2,5-9,32,33}. De salientar que a terapêutica farmacológica para o alívio dos sintomas de insuficiência cardíaca varia caso o doente apresente, ou não, a forma obstrutiva da MCH: na presença de obstrução ou na ausência da mesma mas com uma fração de ejeção superior a 50%, o tratamento é realizado com β -bloqueantes, bloqueadores dos canais de cálcio, disopirâmida (na forma obstrutiva) e diuréticos; já os doentes com forma não obstrutiva e fração de ejeção reduzida devem ser tratados com β -bloqueante e um IECA (Inibidor da Enzima Conversora da Angiotensina) ou ARA (Antagonista do Recetor da Angiotensina) e, eventualmente, diuréticos e ARM (Antagonista dos Recetores dos Mineralocorticóides) ¹. Doentes com progressiva disfunção cardíaca poderão ainda ser candidatos a transplante cardíaco ^{1,2,5-9,32,33}.

Apesar de ser uma patologia conhecida há mais de 50 anos, a MCH sofre de uma escassez de terapêuticas baseadas na evidência, sendo ainda poucos os ensaios clínicos que avaliaram a eficácia dos tratamentos farmacológicos nesta patologia, tendo muitos dos estudos sido realizados com pequenas amostras ^{8,22,31,32,33}. Nas últimas décadas, no entanto, o avançar dos conhecimentos sobre a genética e a fisiopatologia da MCH abriu as portas para a descoberta de novas terapêuticas farmacológicas e genéticas com o potencial de intervir na fisiopatologia complexa da MCH, alterar a sua história natural e funcionar como terapêutica modificadora de doença ^{8,9,22,32,33}. Abordagens genéticas e fármacos como o diltiazem, perhexilina, N-acetilcisteína, ranolazina, estatinas e inibidores do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA), ao atuarem em diferentes vias envolvidas na doença, apresentam o potencial de prevenir ou reverter o fenótipo desta patologia ^{8,9,22,32,47}. Esta revisão tem, assim, como objetivo discutir os mais recentes dados e desenvolvimentos sobre estas novas perspetivas farmacológicas e genéticas na abordagem da MCH.

Diltiazem

O diltiazem é um bloqueador não-dihidropiridínico dos canais de Ca^{2+} tipo L indicado como terapêutica de segunda linha para alívio sintomático no contexto de MCH associada a Insuficiência Cardíaca^{1,2,5-9,32,33}. Pode, adicionalmente, ser utilizado para controlo da resposta ventricular em doentes com fibrilhação auricular nos quais não é possível manter um ritmo sinusal^{1,2,5-9,32,33}. Atualmente, é proposto que as mutações sarcoméricas associadas a esta doença conduzam a uma desregulação precoce da homeostase intracelular do Ca^{2+} ^{11,20,22,47,48} (figura 1). Isto deve-se ao facto destas mutações aumentarem a sensibilidade e afinidade dos miofilamentos do sarcómero para com este ião, impedindo a sua recaptação para o reticulo sarcoplasmático e expulsão para o exterior do cardiomiócito durante a diástole^{11,20-22,46-48}. Por outro lado, as mutações sarcoméricas podem conduzir a um aumento do gasto energético no cardiomiócito, diminuindo a ATP (Adenosina Trifosfato) disponível para o funcionamento de bombas iónicas que regulam os níveis intracelulares de Ca^{2+} ^{11,20,22,47,48} (figura 2). Estes efeitos conduzem a uma acumulação intracelular de Ca^{2+} que, para além de impedir o relaxamento celular, conduzir a disfunção diastólica e aumentar o risco de arritmias, pode ativar vias sinalizadoras que contribuem para a remodelação adversa no miocárdio que caracteriza a MCH^{11,20,22,47,48} (figura 1).

Estudos em modelos animais da MCH sugerem que o tratamento com bloqueadores dos canais de Ca^{2+} tipo L, ao diminuir a entrada de cálcio na célula, podem corrigir a desregulação da homeostase deste ião: recorrendo a ratinhos transgénicos com uma mutação no gene *Myh6* comprovou-se a existência de uma diminuição dos níveis de Ca^{2+} e das suas respetivas proteínas de armazenamento no reticulo sarcoplasmático, diminuição essa que antecede o desenvolvimento de alterações na morfologia e histologia cardíaca⁴⁷. O tratamento com diltiazem restabeleceu os níveis de Ca^{2+} e das suas proteínas de armazenamento no reticulo sarcoplasmático e preveniu o desenvolvimento de HVE e fibrose intersticial no miocárdio destes ratinhos⁴⁷. Foi mais tarde comprovado que o tratamento com diltiazem prevenia ainda o desenvolvimento de disfunção diastólica e morte súbita noutro modelo animal de MCH, portador de uma mutação no gene *Tnnt2*¹⁰.

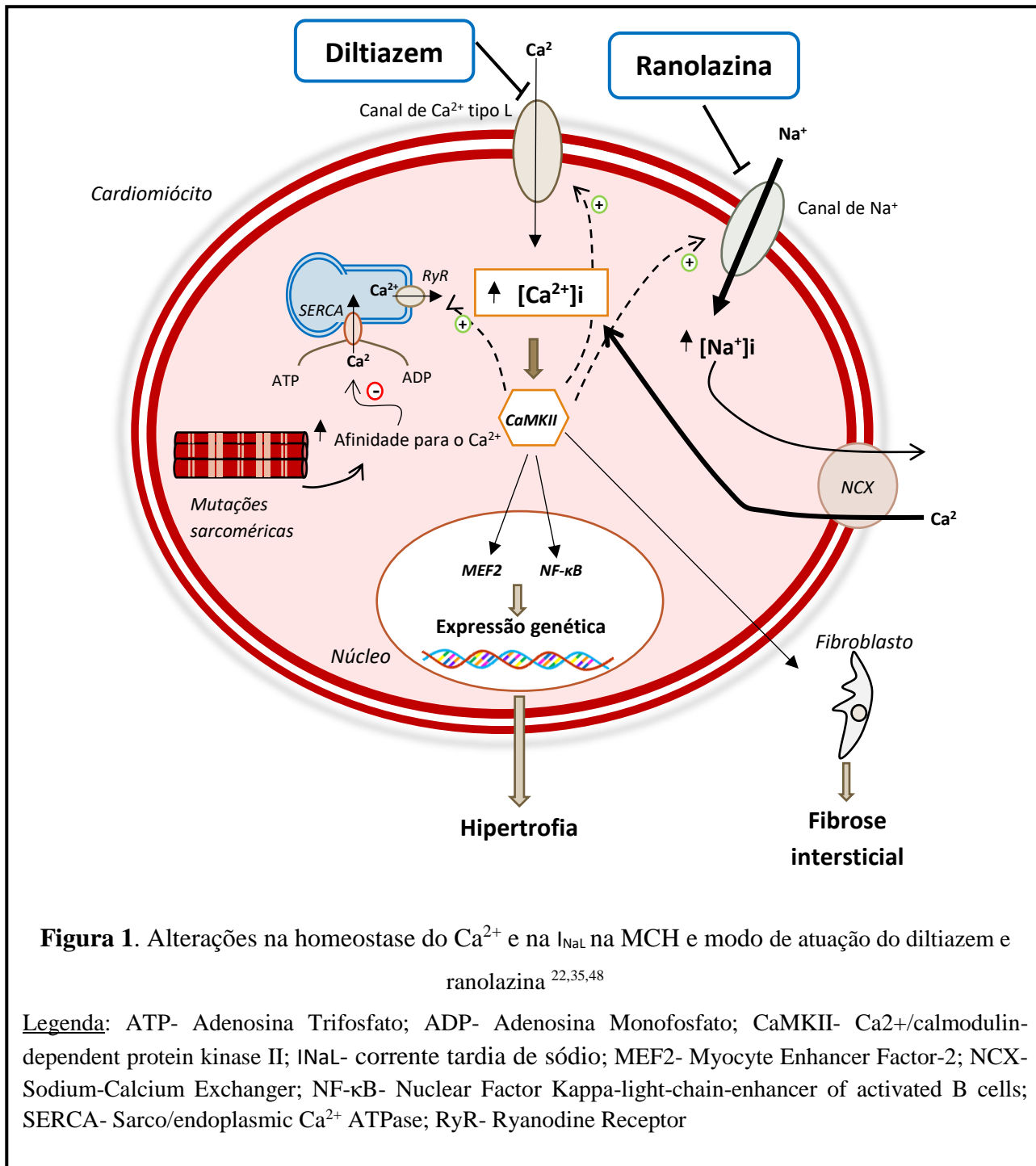


Figura 1. Alterações na homeostase do Ca^{2+} e na I_{NaL} na MCH e modo de atuação do diltiazem e ranolazina^{22,35,48}

Legenda: ATP- Adenosina Trifosfato; ADP- Adenosina Monofosfato; CaMKII- Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II; I_{NaL} - corrente tardia de sódio; MEF2- Myocyte Enhancer Factor-2; NCX- Sodium-Calcium Exchanger; NF- κ B- Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; SERCA- Sarco/endoplasmic Ca^{2+} ATPase; RyR- Ryanodine Receptor

Perante estes resultados, foi proposta a utilização do diltiazem como fármaco modificador de doença em indivíduos portadores de mutações associadas à MCH que não apresentam ainda HVE (indivíduos genótipo positivos-fenótipo negativos)^{9,32}. Com recurso a um ensaio clínico piloto, aleatorizado e controlado por placebo, duplamente oculto, com uma amostra de 38 portadores de mutações sarcoméricas e sem HVE, foi demonstrado que o tratamento com diltiazem (360mg/dia durante 25 meses) permitia uma estabilização do diâmetro telediastólico do ventrículo esquerdo comparativamente com o grupo de controlo, no qual houve uma diminuição deste parâmetro ao longo

do estudo ¹¹. Este estudo demonstrou ainda que a magnitude do efeito benéfico do fármaco parece depender da mutação sarcomérica específica que o doente possua, sendo mais marcado em indivíduos com mutações no gene *MYBPC3* ⁹. Adicionalmente, não ocorreram efeitos adversos significativos e a taxa de adesão ao tratamento manteve-se alta ao longo do estudo ¹¹.

Uma vez que a MCH se associa a uma diminuição das dimensões da cavidade do ventrículo esquerdo, a estabilização do diâmetro telediastólico desta cavidade com recurso ao diltiazem sugere um efeito benéfico com o uso do fármaco na modificação da história natural da doença ¹¹. Os resultados deste estudo apontam, assim, para a utilidade do diltiazem na prevenção da expressão fenotípica da MCH em indivíduos geneticamente predispostos. No entanto, apresenta como limitações principais a pequena amostra e follow-up limitado dos participantes, pelo que conclusões definitivas acerca da eficácia do fármaco não podem ser ainda retiradas ¹¹.

Inibidores da corrente tardia de sódio

Os inibidores da I_{NaL} (corrente tardia de sódio) englobam agentes como a ranolazina, um fármaco que pode ser utilizado como terapêutica de segunda linha para o alívio de sintomas e melhoria da capacidade funcional em pacientes com doença coronária estável ^{8,32-35,48,51}.

A perturbação da homeostase intracelular do Na^+ pode contribuir para a fisiopatologia de várias patologias cardíacas, incluindo a MCH ^{32-33,48,51}. Isto deve-se ao facto de níveis elevados de Na^+ no cardiomiócito agravarem a desregulação da homeostase intracelular do Ca^{2+} , que, como previamente referido, é um evento essencial na patogenia desta doença ^{11,20,22,47,48} (figura 1).

Estudos recentes em cardiomiócitos e trabéculas isoladas do septo interventricular de 26 doentes com MCH submetidos a miectomia cirúrgica identificaram um aumento da amplitude da I_{NaL} nestas células, o que leva a uma subida dos níveis intracelulares do Na^+ ³⁵. Isto, por sua vez, conduz a um aumento da entrada de Ca^{2+} na célula através do *NCX* (*Sodium-Calcium Exchanger*), elevando os níveis intracelulares do Ca^{2+} ³⁵. A inibição da I_{NaL} pela ranolazina demonstrou reduzir os níveis intracelulares de sódio e, consequentemente, diminuir a entrada de Ca^{2+} e restabelecer a sua normal homeostase no cardiomiócito ³⁵ (figura 1). Em conjunto, estes efeitos reduziram o risco de arritmias e melhoraram a função diastólica ³⁵. A longo prazo, é expectável que possam ainda diminuir a ativação de vias sinalizadoras que conduzem a uma remodelação adversa no miocárdio, com possíveis implicações na progressão da doença ³⁵.

Deste modo, a ranolazina é um fármaco com o potencial de modificar a história natural desta doença e/ou permitir alívio sintomático ^{8,32-35,48,51}. Esta hipótese serviu de base para o desenho do estudo *RESTYLE-HCM* (*Ranolazine in Patients with Symptomatic Hypertrophic Cardiomyopathy*), um ensaio clínico duplamente oculto, aleatorizado e controlado por placebo, com uma amostra de 80 indivíduos com MCH sintomática, que procurará avaliar a segurança e eficácia da ranolazina na melhoria da tolerância ao exercício ⁸. Adicionalmente, foi recentemente anunciado a realização do estudo *LIBERTY-HCM* (*Effect of Eleclazine on Exercise Capacity in Subjects With Symptomatic Hypertrophic Cardiomyopathy*), um outro ensaio clínico com uma amostra de 180 doentes que irá avaliar a capacidade da eleclazina, um novo e mais potente inibidor da I_{NaL} , em melhorar a tolerância ao exercício em indivíduos com MCH ⁸.

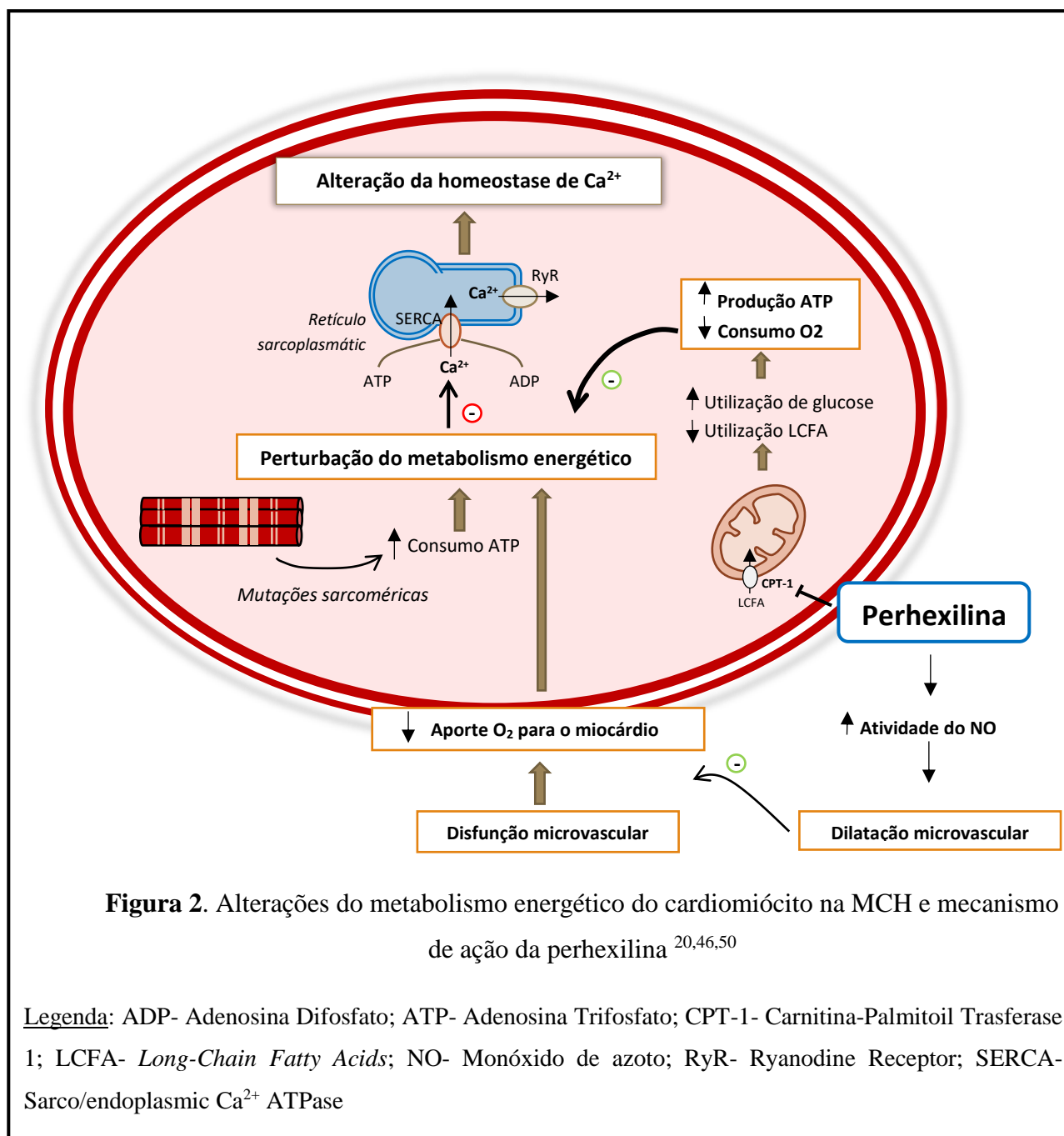
Perhexilina

A perhexilina é um modulador metabólico que pode ser utilizado para o alívio da precordialgia refratária no contexto de cardiopatia isquémica ⁵¹⁻⁵⁴. Apresenta como principal mecanismo de ação uma potente inibição da CPT-1 e, em menor grau, da CPT-2 ⁵¹⁻⁵⁴. Funciona ainda como um fraco inibidor dos canais de Ca^{2+} não se associando, no entanto, a efeitos inotrópicos negativos ^{51,52}. É um agente farmacologicamente complexo, com potencial para neurotoxicidade e/ou hepatotoxicidade, sendo assim necessária uma monitorização a longo prazo do seu nível sérico ⁵¹⁻⁵⁴.

As CPT-1/CPT-2 são enzimas chave para o transporte mitocondrial de ácidos gordos de cadeia longa ⁵¹⁻⁵⁴. A sua inibição pela perhexilina induz assim uma alteração no metabolismo celular, reduzindo o consumo de ácidos gordos e favorecendo o uso de hidratos de carbono como substrato metabólico, o que se associa a uma maior eficiência na utilização de oxigénio para a produção de ATP no miocárdio ⁵¹⁻⁵³ (figura 2). Adicionalmente, o fármaco potencia a atividade do monóxido de azoto por um mecanismo independente da inibição da CPT, o que permite um maior aporte de oxigénio para o miocárdio ⁵¹ (figura 2).

A importância deste efeito da perhexilina na abordagem da MCH deve-se ao facto das mutações sarcoméricas associadas a esta patologia conduzirem a um aumento do *turnover* de pontes cruzadas e do gasto energético durante a contração dos cardiomiócitos, o que leva a uma ineficiente utilização de ATP e contribui para a desregulação da homeostase intracelular do Ca^{2+} ^{11,20-22,46-47} (figura 2). Esta perturbação do metabolismo energético do miocárdio reflete-se numa diminuição do rácio Fosfocreatina:ATP, que constitui um bom indicador do estado energético do músculo cardíaco ^{21,22,47,53,55}. Estudos comprovaram que estas alterações antecedem o desenvolvimento de HVE, sugerindo que a perturbação do metabolismo energético do miocárdio desempenha um papel primário na fisiopatologia da MCH ⁵⁵.

Adicionalmente, hoje reconhece-se que esta doença se associa a uma diminuição da resposta vasodilatadora, disfunção microvascular e diminuição do aporte de oxigénio para o miocárdio, o que exacerba a perturbação energética primária ⁴⁵ (figura 2). Uma vez que a perhexilina apresenta a capacidade de potenciar a atividade do monóxido de azoto, este fármaco tem a capacidade adicional de aliviar a disfunção microvascular que acompanha a MCH ^{45,47,51} (figura 2).



Por estas razões, a perhexilina poderá ser útil na abordagem da MCH (figura 2). Para testar esta hipótese, foi realizado um ensaio clínico duplamente oculto, aleatorizado e controlado por placebo, com uma amostra de 46 doentes com MCH sintomática⁴⁵. Este ensaio clínico demonstrou que a administração de perhexilina (100 mg/dia durante cerca de 5 meses) conduz a uma melhoria do estado energético da doença, evidenciada por um aumento do rácio Fosfocreatina:ATP no miocárdio⁴⁵. O aumento deste rácio associou-se ainda a uma melhoria do consumo de O_2 e da função diastólica dos doentes, bem como a um alívio da sua sintomatologia, o que se traduziu por uma melhoria da sua

classe funcional na classificação da NYHA ⁴⁵. De salientar que durante o estudo foi feita uma monitorização e ajuste apertado dos níveis séricos da perhexilina, pelo que o tratamento com este agente não se acompanhou de efeitos adversos significativos ⁴⁵.

Estes resultados apoiam a hipótese de que a modulação metabólica por parte da perhexilina poderá ser útil na abordagem farmacológica desta patologia ⁴⁵. No entanto, o estudo apresenta como principais limitações a reduzida amostra e o curto período de *follow-up*, sendo necessários futuros estudos a longo prazo que avaliem a eficácia da perhexilina ou de outros moduladores metabólicos no alívio sintomático na MCH ⁴⁵. Foi recentemente anunciada a realização de um ensaio clínico multicêntrico, com uma amostra desejada de 320 indivíduos, que procurará avaliar a segurança e eficácia da perhexilina no alívio da sintomatologia e melhoria do consumo de O₂ em doentes com MCH e insuficiência cardíaca ⁸.

Serão ainda necessários futuros estudos que determinem a capacidade da perhexilina na prevenção ou regressão da HVE ou fibrose intersticial, de modo a determinar a utilidade deste agente como fármaco modificador de doença ⁴⁵.

N-acetilcisteína

A N-acetilcisteína (NAC) é um fármaco melhor conhecido pelo seu uso no contexto de intoxicação farmacológica por acetaminofeno ⁵⁶. É um pró-fármaco que fornece o grupo cisteína necessário para sintetizar e restabelecer os níveis intracelulares de glutatião, o antioxidante celular mais abundante ^{13,17,56}.

Apesar do mecanismo não ser ainda completamente esclarecido, reconhece-se que há um aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio na MCH e que o stress oxidativo desempenha um papel importante na fisiopatologia da doença (figura 3): estudos em coelhos transgênicos portadores de uma mutação no gene *Myh7* identificaram que o desenvolvimento de HVE e fibrose miocárdica se acompanha de um aumento dos níveis de peróxidos lipídicos, como o malondialdeído, e de outros marcadores de stress oxidativo ¹⁷. O stress oxidativo poderá contribuir para o fenótipo da MCH ao estimular a atividade de múltiplas cinases e fatores de transcrição indutores de hipertrofia ⁵⁷ (figura 3). Adicionalmente, promove a proliferação de fibroblastos e a atividade de metaloproteínases, o que pode contribuir para a fibrose intersticial e remodelação da matriz extracelular que acompanha a doença ⁵⁷ (figura 3). O stress oxidativo promove ainda a apoptose de cardiomiócitos, contribuindo para a disfunção celular e remodelação miocárdica ⁵⁷ (figura 3).

Deste modo, o efeito antioxidante da NAC poderá desempenhar um papel importante no tratamento da MCH (figura 3). Estudos em modelos animais identificaram que a administração deste fármaco em ratinhos transgênicos portadores de uma mutação na troponina T diminui o stress oxidativo e reverte parcialmente a fibrose miocárdica ao conduzir a uma redução significativa dos níveis de peróxidos lipídicos e de colagénio intersticial, respetivamente ¹⁴. Adicionalmente, demonstrou-se que a NAC restabelece as reservas intracelulares de glutatião, reverte a HVE e fibrose intersticial já estabelecida, corrige a disfunção sistólica e reduz o risco arritmogénico em coelhos transgênicos com uma mutação no gene *Myh7* ¹³.

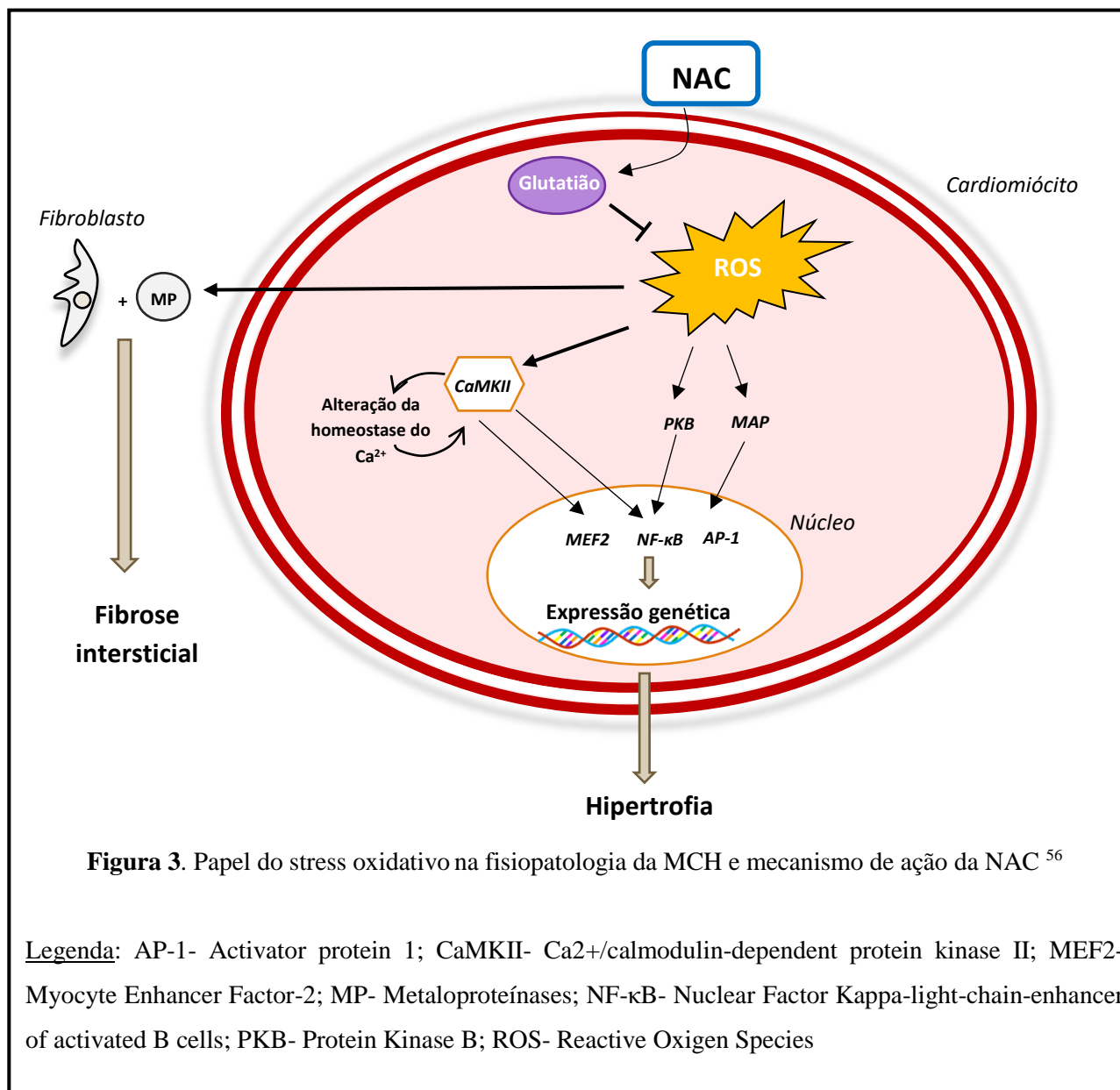


Figura 3. Papel do stress oxidativo na fisiopatologia da MCH e mecanismo de ação da NAC ⁵⁶

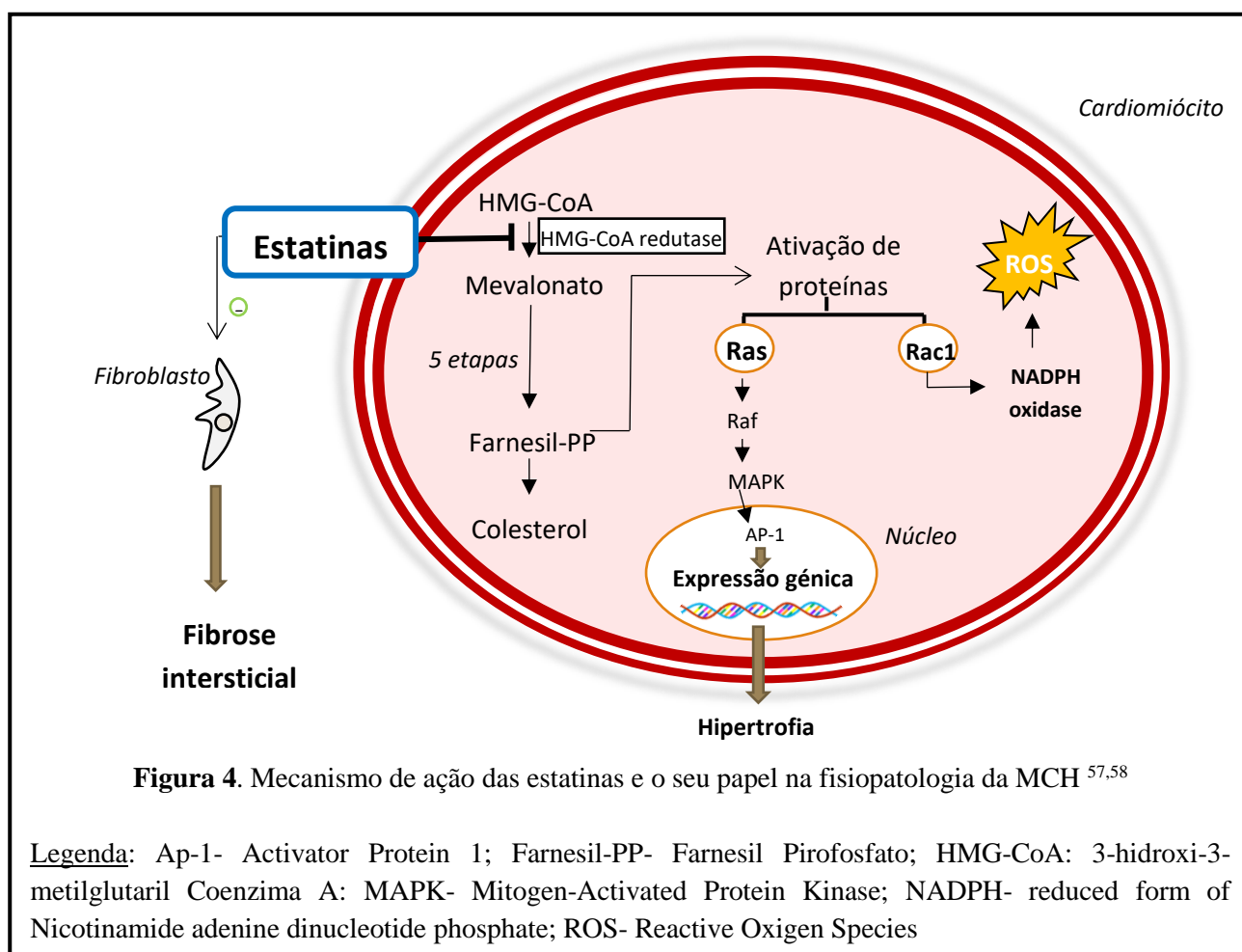
Legenda: AP-1- Activator protein 1; CaMKII- Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II; MEF2- Myocyte Enhancer Factor-2; MP- Metaloproteínas; NF- κ B- Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; PKB- Protein Kinase B; ROS- Reactive Oxygen Species

Estes resultados, associados à segurança da administração da NAC mesmo em doses elevadas, fazem com que este fármaco tenha o potencial de ser utilizado para a prevenção ou reversão do fenótipo da MCH ^{13,56}. No entanto, serão ainda necessários ensaios clínicos que comprovem a eficácia do tratamento a longo prazo com NAC em doentes com esta patologia. Para avaliar esta situação, encontra-se atualmente a decorrer o estudo HALT-HCM (*Hypertrophic Regression With N-Acetylcysteine in HCM*), um ensaio clínico piloto com uma amostra de 75 indivíduos com MCH que procurará determinar a segurança e eficácia da NAC na reversão da HVE e reunir dados preliminares para a realização futura de ensaios clínicos a uma maior escala ⁸.

Estatinas

As estatinas são inibidores da HMG-CoA (3-hidroxi-3-metilglutaril Coenzima A) redutase, enzima essencial para a biossíntese do colesterol^{15-17,58,59}. São dos fármacos mais prescritos para o tratamento da dislipidemia, possuindo ainda uma grande variedade de ações biológicas para lá do seu efeito na redução dos níveis de colesterol^{15-17,58,59}. Por esta razão, são considerados agentes com efeitos pleiotrópicos, desempenhando ações ao nível do stress oxidativo, proliferação celular, função endotelial, coagulação e modulação imunitária^{15-17,58,59}.

Dada a sua variedade de efeitos biológicos, as estatinas têm o potencial de desempenhar ações benéficas em várias patologias, incluindo a MCH^{15,58} (figura 4). Ao inibirem a HMG-CoA redutase, as estatinas reduzem a ativação de múltiplas moléculas sinalizadoras que promovem a hipertrofia e fibrose intersticial cardíaca, como as proteínas G Ras e Rac1^{17,19,58,59}. Adicionalmente, as estatinas reduzem o stress oxidativo ao diminuir a produção de espécies reativas de oxigénio mediada pela Rac1, fator adicional que contribui para o desenvolvimento de HVE e fibrose intersticial no miocárdio (figura 3)^{17,19,58,59}.



Perante estes efeitos, estudos em modelos animais procuraram avaliar a utilidade das estatinas em prevenir ou reverter as alterações fenotípicas associadas à MCH: com recurso a coelhos transgênicos com uma mutação no gene *Myh7*, com HVE estabelecida, foi demonstrado que o tratamento com sinvastatina reduz a massa ventricular esquerda e a espessura da parede ventricular, bem como os níveis de colagénio intersticial, revertendo assim a hipertrofia e fibrose cardíaca, respetivamente ¹⁶. A administração de sinvastatina apresentou ainda efeitos funcionais benéficos ao melhorar a função diastólica ¹⁶. Outro estudo, no mesmo modelo animal com a mesma mutação, demonstrou que a administração de atorvastatina previamente ao desenvolvimento de HVE reduz o stress oxidativo no miocárdio e previne o desenvolvimento de hipertrofia ventricular ¹⁷.

Em contraste com os estudos em modelos animais, estudos em humanos não demonstraram um efeito benéfico das estatinas na regressão do fenótipo da MCH ^{18,19}: num ensaio clínico piloto duplamente oculto, aleatorizado e controlado por placebo, com uma amostra de 28 indivíduos com MCH e HVE estabelecida, o tratamento com altas doses de atorvastatina (80 mg/dia durante 9 meses) não se associou a uma diminuição da massa ventricular esquerda e não melhorou a função miocárdica ¹⁸. Estes resultados foram replicados num outro ensaio clínico, com uma amostra inicial de 21 doentes, onde a administração de atorvastatina (80 mg/dia, durante um período máximo de 24 meses), não conduziu a uma regressão da HVE ¹⁹.

A pequena amostra destes ensaios, associada à existência de múltiplas mutações causadoras e de vias fisiopatológicas envolvidas na MCH em humanos, ao contrário do que ocorre nos modelos animais previamente estudados onde era constante a mutação na cadeia pesada da β -miosina, poderão explicar as discordâncias entre os resultados destes ensaios clínicos e os dados experimentais obtidos em modelos animais ¹⁹. Adicionalmente, ambos os ensaios apenas avaliaram a eficácia da atorvastatina na reversão do fenótipo da MCH, não se podendo excluir que outras estatinas possam ser eficazes na prevenção ou reversão da hipertrofia ventricular e fibrose intersticial ¹⁹. Atualmente, no entanto, não se encontram a decorrer outros ensaios clínicos em humanos para avaliar a eficácia das estatinas como fármaco modificador de doença na MCH ⁸.

Inibidores do sistema renina-angiotensina-aldosterona

Os inibidores do SRAA, como os IECA, os ARA e os ARM, são agentes que podem ser utilizados, em adição aos β -bloqueantes, para o tratamento de indivíduos com MCH associada a Insuficiência Cardíaca com fração de ejeção inferior a 50% e sem obstrução no trato de saída do ventrículo esquerdo ¹.

À semelhança do que ocorre noutras patologias crónicas, como a hipertensão arterial, onde a angiotensina II e a aldosterona conduzem a uma remodelação cardíaca e vascular adversa, atualmente reconhece-se que a ativação do SRAA pode desempenhar um papel importante na fisiopatologia da MCH ^{9,23-29,48,49} (figura 4). Este eixo contribui para o desenvolvimento de HVE e fibrose miocárdica através de efeitos pró-fibróticos e pró-hipertroóficos mediados pela angiotensina II em circulação e pela ativação local deste sistema no miocárdio ²³⁻²⁵. Adicionalmente, foi demonstrado que polimorfismos nos genes que codificam a enzima conversora da angiotensina ou o recetor AT1 da angiotensina II se podem associar a um maior grau de HVE em doentes com MCH ²⁴.

Deste modo, a inibição farmacológica do SRAA poderá contribuir para a prevenção ou reversão do fenótipo da MCH ^{8,9} (figura 4). Estudos em ratinhos transgénicos com uma mutação na troponina T demonstraram que a administração de losartan, um ARA II, reduz os níveis de *TGF β -1* (*Transforming Growth Factor β -1*), um conhecido mediador pró-fibrótico da angiotensina II, e diminui os níveis de colagénio intersticial no coração destes ratinhos, revertendo assim a fibrose desenvolvida ³⁰. A antagonização dos recetores de mineralocorticóides através da administração de espironolactona também demonstrou ser eficaz na reversão da fibrose intersticial e desarranjo de cardiomiócitos no mesmo modelo animal, melhorando ainda a sua função diastólica ²³. Um estudo noutra modelo animal comprovou ainda que o tratamento com captopril, um IECA, reduz a HVE desenvolvida ²⁶. Neste estudo, a terapêutica combinada com captopril e espironolactona permitiu, ainda, uma redução mais significativa da espessura da parede ventricular esquerda comparativamente com a monoterapia com captopril ²⁶.

Os primeiros estudos em humanos também revelaram resultados promissores com o uso destes fármacos. A administração de valsartan, um ARA II, numa dose de 80 mg/dia durante 12 meses, num estudo aleatorizado e controlado por placebo, com uma amostra de 23 indivíduos com MCH, conduziu a uma redução da síntese de colagénio tipo I, um dos principais tipos de colagénio no miocárdio ²⁷. Um outro ensaio clínico piloto, não controlado e não aleatorizado, com uma amostra de

30 doentes com MCH sintomática e sem obstrução no trato de saída do ventrículo esquerdo identificou que o losartan (100 mg/dia durante 6 meses), em adição à terapêutica habitual dos doentes, se associa a uma redução da sua sintomatologia, melhoria de parâmetros ecográficos de função diastólica do ventrículo esquerdo e diminuição dos níveis de *NT-pro-BNP* (*N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide*), um importante marcador de disfunção ventricular ⁴⁸.

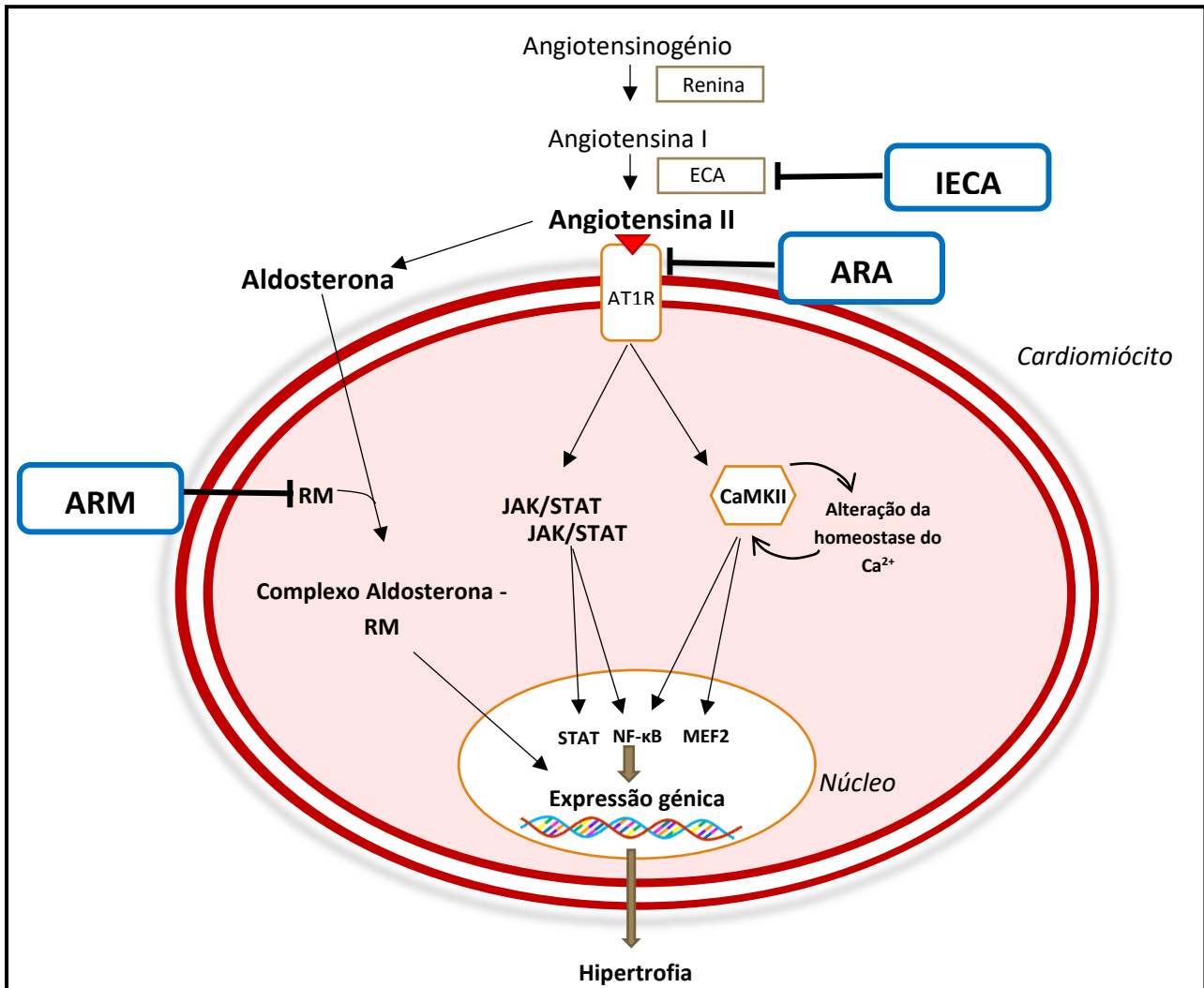


Figura 5. Importância do SRAA na fisiopatologia da MCH e mecanismo de ação dos diferentes fármacos inibidores deste sistema ²¹⁻²³

Legenda: ARA- Antagonista do Recetor da Angiotensina; ARM- Antagonista do Recetor dos Mineralocorticóides; AT1R- Recetor tipo 1 da Angiotensina II; CaMKII- Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II; ECA- Enzima Conversora da Angiotensina; IECA- Inibidor da Enzima Conversora da Angiotensina; JAK- Janus Kinase; MEF2- Myocyte Enhancer Factor-2; NF-κB- Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; RM- Recetor de mineralocorticóides; STAT- Signal Transducer and Activator of Transcription;

Estes primeiros ensaios clínicos não demonstraram que a utilização dos ARA II conseguisse reverter a hipertrofia ventricular esquerda estabelecida em humanos ^{27,48}. Estudos mais recentes, no entanto, sugerem que estes fármacos possam apresentar esse efeito benéfico ^{28,29,49}: num ensaio clínico piloto, duplamente oculo, aleatorizado e controlado por placebo, com uma amostra de 19 indivíduos com MCH e HVE estabelecida, sem obstrução do trato de saída do ventrículo esquerdo, o tratamento com losartan (50 mg/dia durante 12 meses) conduziu a uma ligeira redução da massa ventricular esquerda ⁴⁹. Este efeito benéfico foi replicado num outro estudo com amostra semelhante de 20 doentes com MCH ²⁸. Neste estudo, o tratamento com losartan (50 mg/dia durante 12 meses) levou ainda a uma redução da fibrose intersticial, evidenciada por uma diminuição da extensão do realce tardio com gadolínio na ressonância magnética cardíaca ²⁸.

Por fim, num terceiro ensaio clínico, duplamente oculo, aleatorizado e controlado por placebo, com uma amostra de 24 indivíduos com MCH e HVE estabelecida, sem obstrução do trato de saída do ventrículo esquerdo, a terapêutica com candesartan, um outro ARA II, na dose de 32mg/dia durante 12 meses, também reverteu a HVE e conduziu ainda a uma melhoria de parâmetros ecográficos de função ventricular, da sintomatologia e da tolerância ao exercício dos doentes ²⁹. Este estudo demonstrou adicionalmente que a magnitude do efeito benéfico do fármaco parece depender da mutação sarcomérica específica que o doente possua, sendo mais marcado em indivíduos com mutações no gene *MYH7* ²⁹.

Para esclarecer os resultados contraditórios obtidos nestes ensaios clínicos piloto e determinar a eficácia da inibição do SRAA na reversão da HVE e fibrose intersticial em indivíduos com MCH, foi realizado o estudo INHERIT (*INHibition of the renin angiotensin system in hypertrophic cardiomyopathy and the Effect on hypertrophy*) ^{31,60}. Neste ensaio clínico aleatorizado, duplamente oculo e controlado por placebo, com uma amostra de 124 doentes, o tratamento com losartan (100 mg/dia durante 12 meses), apesar de seguro, não conduziu a uma redução significativa da massa ventricular esquerda nem da fibrose intersticial ^{31,60}. Estes resultados não apoiam, assim, a hipótese de que este agente consiga alterar o fenótipo da MCH, pelo menos em indivíduos com doença já estabelecida ^{31,60}.

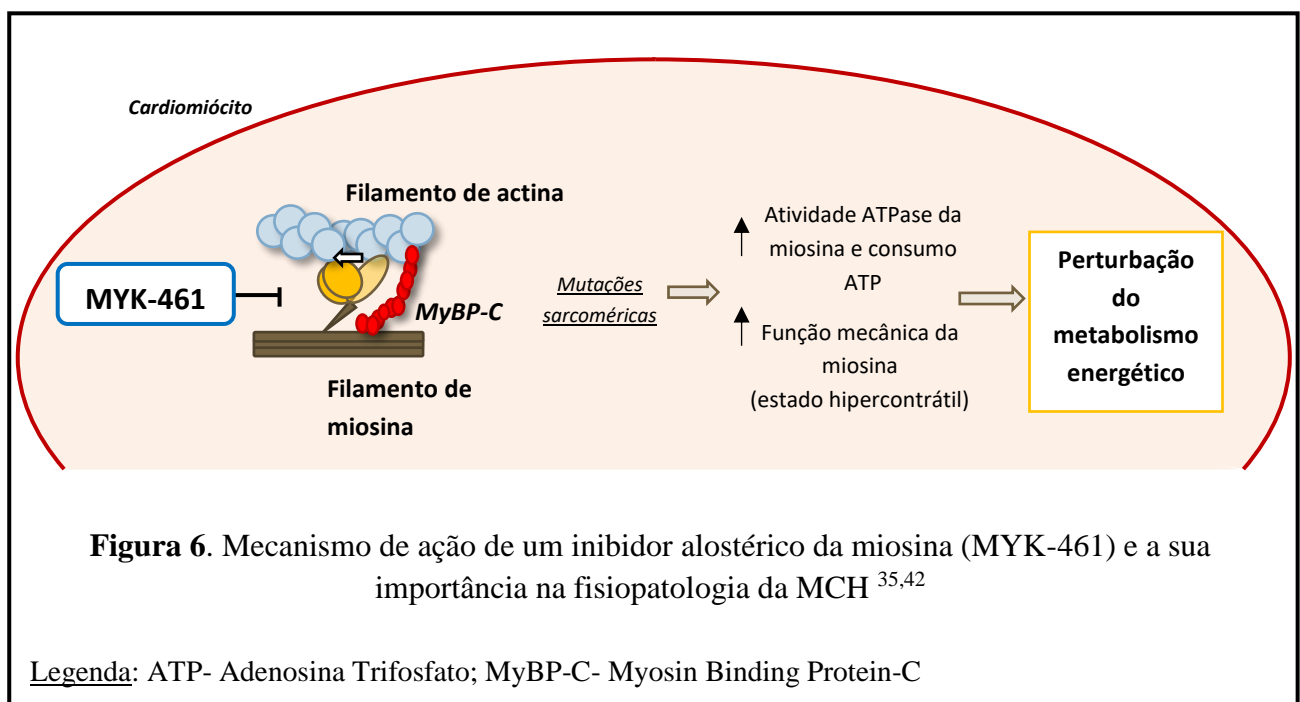
No entanto, ainda existe a possibilidade de que a inibição do SRAA seja útil em doentes com MCH pré-clínica (isto é, indivíduos genótipo positivos-fenótipo negativos) na prevenção do desenvolvimento da doença ^{29,31}. Encontra-se atualmente a decorrer o estudo VANISH (*Valsartan for Attenuating Disease Evolution In Early Sarcomeric Hypertrophic Cardiomyopathy*), um ensaio clínico com uma amostra desejada de 150 indivíduos portadores de mutações patogénicas associadas à MCH mas ainda sem hipertrofia ventricular esquerda, que procurará avaliar a eficácia da terapêutica

com valsartan, em doses máximas de 160 mg/dia, na prevenção da expressão fenotípica desta patologia⁸.

Moduladores da contratilidade do sarcômero

A miosina é uma das proteínas que faz parte do complexo contrátil do sarcômero ⁴³. Constitui uma enzima com atividade de ATPase que interage ciclicamente com os filamentos de actina para converter energia em força e permitir a contração do cardiomiócito ⁴³.

Como previamente referido, a MCH é maioritariamente causada por mutações em proteínas do sarcômero, sendo a mutação no gene *MYH7*, juntamente com a mutação no gene *MYBPC3*, uma das principais causas de MCH ¹⁻⁶. Tem sido demonstrado que as mutações no gene *MYH7* conduzem a um estado de hipercontratibilidade ao aumentarem a atividade da miosina cardíaca ^{8,43}: estudos em modelos animais identificaram que as mutações na miosina associadas à MCH levam a um aumento da sua atividade de ATPase e função mecânica (produção de força e movimento) ³⁶. Este ganho de função conduz a um aumento do consumo de ATP, contribuindo para a perturbação do metabolismo energético que está na base do desenvolvimento da doença, como já foi referido ^{21,43} (figura 6).



Deste modo, o uso de moléculas com a capacidade de reduzir este aumento de atividade da miosina poderá prevenir o desenvolvimento do fenótipo da MCH ⁸. Para avaliar esta hipótese, foi recentemente desenvolvido o *MYK-461*, um inibidor alostérico da miosina que reduz a sua atividade de ATPase e, consequentemente, a produção de força e contratilidade do sarcômero ³⁷ (figura 6). A administração da *MYK-461* em modelos animais da MCH preveniu o desenvolvimento de HVE em

ratinhos pré-hipertróficos e reverteu parcialmente a hipertrofia em ratinhos com o fenótipo já estabelecido ³⁷. A nível histopatológico, esta molécula conseguiu prevenir (mas não reverter) o desenvolvimento de fibrose miocárdica e desarranjo de cardiomiócitos ³⁷. Adicionalmente, reduziu ainda a expressão de genes pró-fibróticos e pró-hipertróficos nestes ratinhos ³⁷.

Os moduladores da contratilidade do sarcómero apresentam assim o potencial de atenuar e prevenir o desenvolvimento das alterações morfológicas, histopatológicas e moleculares que acompanham a MCH, sendo o passo seguinte a realização de estudos em doentes com esta patologia ^{8,37}. A segurança do *MYK-461* já foi demonstrada em três pequenos ensaios clínicos com uma amostra total de 86 indivíduos saudáveis e 15 doentes com MCH, sendo previsto em 2016 o início do estudo PIONEER-HCM (*Clinicaltrials.gov* NCT02842242), que procurará avaliar a eficácia desta molécula no alívio da obstrução do trato de saída do ventrículo esquerdo em indivíduos com doença obstrutiva sintomática.

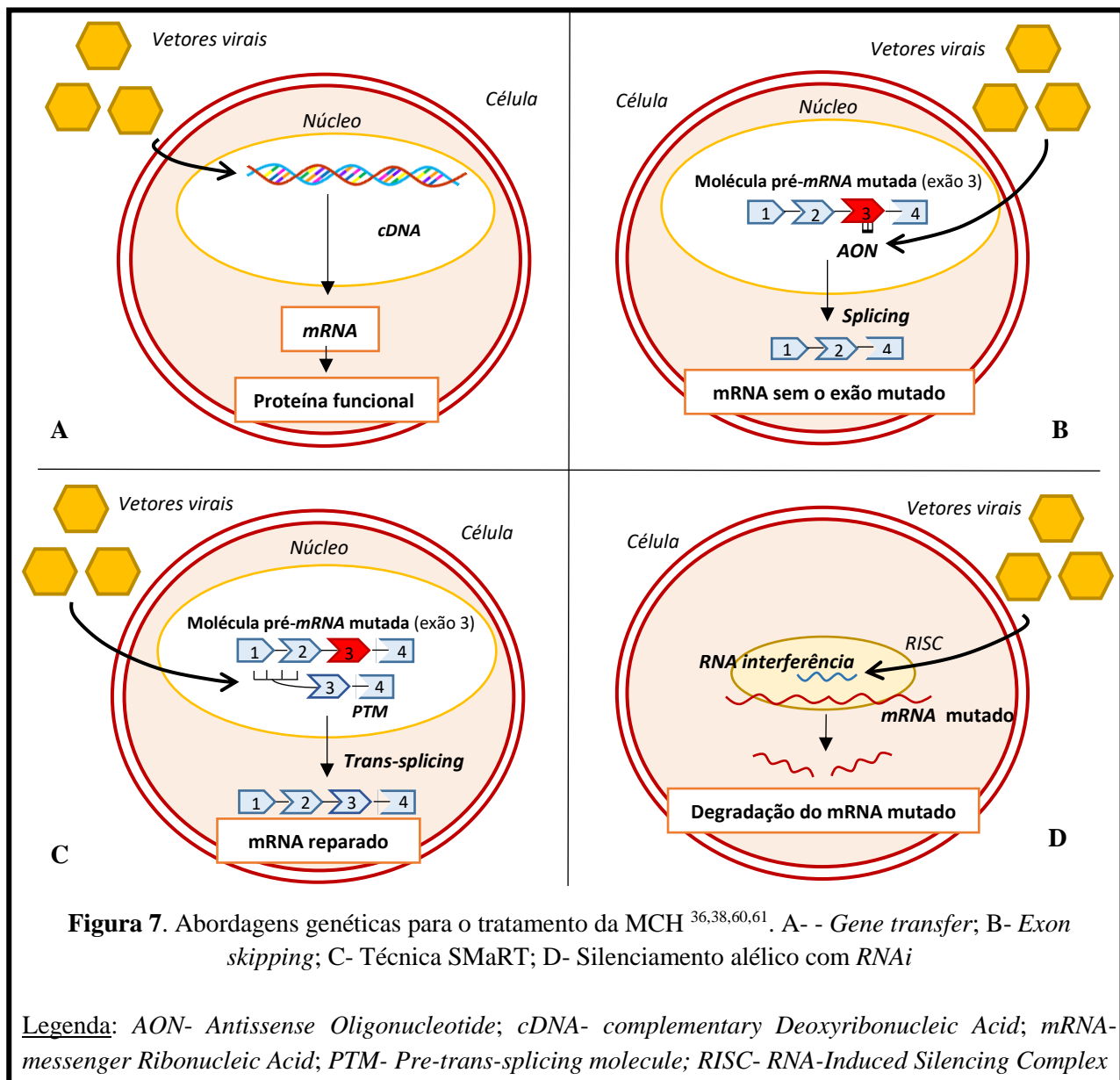
Terapêutica genética

A terapêutica genética é uma estratégia com o potencial de prevenir, logo à partida, o desenvolvimento da doença ^{38,47}.

Recentemente, procurou-se corrigir a MCH ao induzir a expressão de uma proteína sarcomérica funcional que substituísse a forma endógena, e mutada, da proteína ^{38,47} (figura 7A). Esta estratégia tem especial interesse em mutações no gene *MYBPC3*, que se associam a níveis baixos da proteína sarcomérica ^{38,47}. Num recente estudo a transferência, através de vetores virais, de *cDNA* (*complementary DNA*) *wild-type* do gene *Mybpc3* em ratinhos com uma mutação neste gene permitiu aumentar, de uma forma dose-depende, os níveis de *mRNA* (*messenger Ribonucleic Acid*) e de proteína C ligante da miosina *wild-type* ³⁹. Conseguiu ainda suprimir os níveis de *mRNA* mutante e prevenir a longo prazo o desenvolvimento de HVE e disfunção sistólica e diastólica ³⁹.

Outras abordagens, igualmente promissoras, procuram atuar ao nível do *mRNA* alterado. Uma destas abordagens consiste no *skipping* de exões, uma técnica que recorre à administração de oligonucleótidos *antisense* através de vetores virais ^{38,40,47} (figura 7B). Estes oligonucleótidos, ao serem complementares a uma determinada região de interesse no pré-*mRNA*, impedem a ligação de proteínas reguladoras do *splicing* nessa região e inibem a inclusão de exões-alvo no *mRNA* maduro ^{38,40,47}. Um recente estudo *proof-of-concept* demonstrou que a utilização desta técnica em ratinhos com mutações no gene *Mybpc3*, para remoção do exão onde se encontrava a mutação, permitiu aumentar os níveis da forma funcional da proteína C ligante da miosina ⁴⁰. Adicionalmente, preveniu o desenvolvimento de disfunção sistólica e HVE nestes ratinhos, embora este efeito tenha sido transitório ⁴⁰.

Outra estratégia consiste em reparar o pré-*mRNA* alterado através da técnica *SMaRT* ^{38,47,61,62} (figura 7C). Nesta técnica, duas moléculas - a molécula mutante de pré-*mRNA* e uma molécula terapêutica, entregue à célula através de um vetor viral- sofrem *splicing* entre si para originar uma molécula reparada de *mRNA* ^{38,62}. Um estudo em modelos animais demonstrou que a técnica *SMaRT* corrige o *mRNA* alterado na mutação *Mybpc3* quer *in vitro* quer *in vivo*, embora esta correção não se tenha associado a um aumento significativo dos níveis de proteína normal ou à prevenção do fenótipo da MCH ⁴¹.



Por fim, outra estratégia consiste na administração de RNAi (*RNA interference*), através de vetores virais para silenciar as mutações associadas à MCH⁴⁷. Num estudo em ratinhos uma mutação no gene *Myh6*, esta técnica demonstrou ser capaz de prevenir o desenvolvimento do fenótipo da doença⁴² (figura 7D).

Conclusão

Apesar de há algumas décadas ser considerada uma doença rara, hoje reconhece-se que a MCH é uma patologia relativamente comum, com possíveis consequências nefastas para os indivíduos afetados. Ainda assim, o seu tratamento pouco se alterou desde que a MCH foi inicialmente descrita, sendo que a procura de abordagens capazes de reverter ou prevenir o fenótipo da doença e, consequentemente, os seus sintomas e complicações, continua a ser um processo árduo. No entanto, o avançar substancial do conhecimento sobre a fisiopatologia da MCH permitiu o desenvolvimento de terapêuticas que, ao corrigirem as alterações metabólicas, energéticas e funcionais causadas pelas mutações sarcoméricas, têm o potencial de preencher esta lacuna existente no tratamento da MCH.

Estas abordagens são altamente apelativas e poderão ser desempenhadas por diferentes fármacos, desde bloqueadores dos canais de cálcio até moduladores metabólicos e, eventualmente, por estratégias dirigidas a mutações sarcoméricas específicas, sejam elas a modulação da contratilidade das proteínas do sarcómero ou terapêuticas genéticas. A grande maioria demonstrou, em estudos em modelos animais, a capacidade de funcionar como terapêuticas modificadoras de doença. Alguns fármacos, como o diltiazem e a perhexilina, tiveram adicionalmente resultados positivos nos primeiros ensaios clínicos em humanos, esperando-se no futuro novos estudos que comprovem a sua eficácia; outros fármacos, como a ranolazina e a NAC, ainda aguardam os primeiros ensaios clínicos em doentes com MCH. Já os inibidores do SRAA ou estatinas apresentaram resultados desapontantes ou contraditórios nos estudos feitos em humanos. Os moduladores da contratilidade do sarcómero e a terapêutica genética, por outro lado, são duas das estratégias mais promissoras dada a sua capacidade de atuar nas alterações mais primárias da fisiopatologia da MCH. Estas últimas abordagens, apesar de se encontrarem numa fase muito precoce da sua investigação, apresentaram grandes avanços nos últimos anos que culminaram no recente anúncio da realização do primeiro ensaio clínico em humanos que irá avaliar a eficácia da *MYK-461*, um inibidor alostérico da miosina, para o tratamento da MCH.

Estas estratégias, ao atuarem em eventos precoces e chave no desenvolvimento da MCH, podem assim atenuar ou atrasar o desenvolvimento fenotípico da patologia ou, até, prevenir o emergir da doença. Estas abordagens representam, deste modo, um promissor futuro para o tratamento da MCH.

Bibliografia

- 1- Elliott PM, Anastasakis A, Borger MA et al. 2014 ESC guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: The task force for the diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2014;35:2733–2779
- 2- Maron BJ, Ommen SR, Semsarian C et al. Hypertrophic cardiomyopathy: present and future, with translation into contemporary cardiovascular medicine. *J Am Coll Cardiol*. 2014 Jul 8;64(1):83-99
- 3- Elliott P, Andersson B, Arbustini E et al. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society Of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J* 2008;29:270–276
- 4- Force T, Bonow RO, Houser SR et al. Research priorities in hypertrophic cardiomyopathy: report of a Working Group of the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Circulation*. 2010 Sep 14;122(11):1130-3
- 5- Maron BJ, Maron MS. Hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet*. 2013 Jan 19;381(9862):242-55
- 6- Brito D, Miltenberger-Miltenyi G, Vale Pereira S et al. Sarcomeric hypertrophic cardiomyopathy: genetic profile in a Portuguese population.
- 7- Maron BJ. Hypertrophic cardiomyopathy: a systematic review. *JAMA*. 2002 Mar 13;287(10):1308-20
- 8- Ammirati E, Contri R, Coppini R et al. Pharmacological treatment of hypertrophic cardiomyopathy: current practice and novel perspectives. *Eur J Heart Fail*. 2016 Apr 24
- 9- Spoladore R, Maron MS, D’Amato R et al. Pharmacological treatment options for hypertrophic cardiomyopathy: high time for evidence. *EurHeart J* 2012;33:1724–173
- 10- Westermann D, Knollmann BC, Steendijk P, et al. Diltiazem treatment prevents diastolic heart failure in mice with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*. 2006;8:115–21
- 11- Ho CY, Lakdawala NK, Cirino AL, et al. Diltiazem treatment for pre-clinical hypertrophic cardiomyopathy sarcomere mutation carriers: a pilot randomized trial to modify disease expression. *JACC Heart Fail*. 2015 Feb; 3(2): 180–188.
- 12- Criley JG, Boehm EA, Blair E et al. Hypertrophic cardiomyopathy due to sarcomeric gene mutations is characterized by impaired energy metabolism irrespective of the degree of hypertrophy. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41:1776–1782

- 13- Lombardi R, Rodriguez G, Chen SN et al. Resolution of established cardiac hypertrophy and fibrosis and prevention of systolic dysfunction in a transgenic rabbit model of human cardiomyopathy through thiol-sensitive mechanisms. *Circulation* 2009;119:1398–1407.
- 14- Marian AJ, Senthil V, Chen SN, Lombardi R. Antifibrotic effects of antioxidant N-acetylcysteine in a mouse model of human hypertrophic cardiomyopathy mutation. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47:827– 834
- 15- Kostner KM. Statin therapy for hypertrophic cardiomyopathy: too good to be true? *Eur J Clin Invest*. 2010 Nov;40(11):965-7
- 16- Patel R, Nagueh S, Tsybouleva N. Simvastatin Induces Regression of Cardiac Hypertrophy and Fibrosis and Improves Cardiac Function in a Transgenic Rabbit Model of Human Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation*. 2001 July;103:27–34
- 17- Senthil V, Chen SN, Tsybouleva N et al. Prevention of cardiac hypertrophy by atorvastatin in a transgenic rabbit model of human hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 2005;97:285–292
- 18- Bauersachs J, Störk S, Kung M et al. HMG CoA reductase inhibition and left ventricular mass in hypertrophic cardiomyopathy: a randomized placebo-controlled pilot study. *Eur J Clin Invest*. 2007 Nov;37(11):852-9
- 19- Nagueh SF, Lombardi R, Tan Y et al. Atorvastatin and cardiac hypertrophy and function in hypertrophic cardiomyopathy: a pilot study. *Eur J Clin Invest*. 2010 Nov;40(11):976-83
- 20- Fatkin D, McConnell BK, Mudd JO, et al. An abnormal Ca(2+) response in mutant sarcomere protein-mediated familial hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest*. 2000 Dec;106(11):1351-9
- 21- Ashrafian H, Redwood C, Blair E, Watkins H. Hypertrophic cardiomyopathy: a paradigm for myocardial energy depletion. *Trends Genet*. 2003;19:263–268
- 22- Ashrafian H, McKenna WJ, Watkins H. Disease Pathways and Novel Therapeutic Targets in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation Research*. 2011; 109: 86-96
- 23- Tsybouleva N, Zhang L, Chen S, et al. Aldosterone, through novel signaling proteins, is a fundamental molecular bridge between the genetic defect and the cardiac phenotype of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation*. 2004 Mar 16;109(10):1284-91
- 24- Orenes-Piñero E, Hernández-Romero D, Jover E, et al. Impact of polymorphisms in the renin–angiotensin–aldosterone system on hypertrophic cardiomyopathy. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2011 Dec;12(4):521-30
- 25- Marian AJ. Pathogenesis of diverse clinical and pathological phenotypes in hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet*. 2000 Jan 1;355(9197):58-60

- 26- de Resende MM, Kriegel AJ, Greene AS. Combined Effects of Low-Dose Spironolactone and Captopril Therapy in a Rat Model of Genetic Hypertrophic Cardiomyopathy. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2006 Dec;48(6):265-73
- 27- Kawano H, Toda G, Nakamizo R, et al. Valsartan Decreases Type I Collagen Synthesis in Patients With Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circ J*. 2005 Oct;69(10):1244-8
- 28- Shimada YJ, Passeri JJ, Baggish AL, et al. Effects of Losartan on Left Ventricular Hypertrophy and Fibrosis in Patients With Nonobstructive Hypertrophic Cardiomyopathy. *JACC Heart Fail*. 2013 Dec;1(6):480-7
- 29- Penicka M, Gregor P, Kerekes R, et al. The Effects of Candesartan on Left Ventricular Hypertrophy and Function in Nonobstructive Hypertrophic Cardiomyopathy. A Pilot, Randomized Study. *J Mol Diagn*. 2009 Jan;11(1):35-41~
- 30- Lim DS, Lutucuta S, Bachireddy P, et al. Angiotensin II Blockade Reverses Myocardial Fibrosis in a Transgenic Mouse Model of Human Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation*. 2001 Feb 13;103(6):789-91
- 31- Olivotto I, Ashley EA. INHERIT (INHibition of the renin angiotensin system in hypertrophic cardiomyopathy and the Effect on hypertrophy—a Randomised Intervention Trial with losartan). *Global Cardiology Science and Practice*. 2015;7
- 32- Efthimiadis GK, Pagourelias ED, Gossios T, et al. Hypertrophic cardiomyopathy in 2013: Current speculations and future perspectives. *World J Cardiol*. 2014 Feb 26; 6(2): 26
- 33- Houston BA, Stevens GA. Hypertrophic Cardiomyopathy: A Review. *Clin Med Insights Cardiol*. 2014; 8(Suppl 1): 53–65
- 34- Coppini R, Ferrantini C, Mazzoni L et al. Regulation of intracellular Na⁺ in health and disease: pathophysiological mechanisms and implications for treatment. *Glob Cardiol Sci Pract*. 2013 Nov 1;2013(3):222-42
- 35- Coppini R, Ferrantini C, Yao L, et al. Late Sodium Current Inhibition Reverses Electromechanical Dysfunction in Human Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation*. 2013 Feb 5;127(5):575-84
- 36- Tyska MJ, Hayes E, Giewat M. Single-molecule mechanics of R403Q cardiac myosin isolated from the mouse model of Familial Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circ Res*. 2000 Apr 14;86(7):737-44
- 37- Green EM, Wakimoto H, Anderson RL et al. A small-molecule inhibitor of sarcomere contractility suppresses hypertrophic cardiomyopathy in mice. *Science*. 2016 Feb 5;351(6273):617-21

- 38- Behrens-Gawlik, V., Mearini, G., Gedicke-Hornung, C. et al. MYBPC3 in hypertrophic cardiomyopathy: from mutation identification to RNA-based correction. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* (2014) 466: 215
- 39- Mearini G, Stimpel D, Geertz B. Mybpc3 gene therapy for neonatal cardiomyopathy enables long-term disease prevention in mice. *Nat Commun.* 2014 Dec 2;5:5515
- 40- Hornung CH, Behrens-Gawlik V, Reischmann S. et al. Rescue of cardiomyopathy through U7snRNA-mediated exon skipping in Mybpc3-targeted knock-in mice. *EMBO Mol Med.* 2013 Jul; 5(7): 1060–1077
- 41- Mearini G, Stimpel D, Krämer E. et al. Repair of Mybpc3 mRNA by 5'-trans-splicing in a Mouse Model of Hypertrophic Cardiomyopathy. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2013 Jul 2;2:e102
- 42- Jiang J, Wakimoto H, Seidman JG, Seidman CE et al. Allele-specific Silencing of Mutant Myh6 Allele in Mice Suppresses Hypertrophic Cardiomyopathy. *Science.* 2013 Oct 4;342(6154):111-4
- 43- Warshaw, DM. Throttling back the heart's molecular motor. A small molecule inhibits mutated forms of myosin that cause cardiac hypertrophy. *Science.* 2016 Feb 5; 351(6273): 556–557.
- 44- Spudich, JA. The myosin mesa and a possible unifying hypothesis for the molecular basis of human hypertrophic cardiomyopathy. *Biochem Soc Trans.* 2015 Feb 1; 43(1): 64–72
- 45- Abozguia K, Elliott P, McKenna W et al. Metabolic modulator perhexiline corrects energy deficiency and improves exercise capacity in symptomatic hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2010;122:1562–1569
- 46- Semsarian C, Ahmad I, Giewat M, et al. The L-type calcium channel inhibitor diltiazem prevents cardiomyopathy in a mouse model. *J Clin Invest.* 2002 Apr;109(8):1013-20
- 47- Tardiff JC, Carrier L, Bers DM, et al. Targets for therapy in sarcomeric cardiomyopathies. *Cardiovasc Res.* 2015 Apr 1;105(4):457-70
- 48- Araujo AQ, Arteaga E, Ianni BM, et al. Effect of Losartan on Left Ventricular Diastolic Function in Patients With Nonobstructive Hypertrophic Cardiomyopathy. *Am J Cardiol.* 2005 Dec 1;96(11):1563-7
- 49- Yamazaki T, Suzuki J, Shimamoto RA, et al. New Therapeutic Strategy for Hypertrophic Nonobstructive Cardiomyopathy in Humans A Randomized and Prospective Study With an Angiotensin II Receptor Blocker. *Int Heart J.* 2007 Nov;48(6):715-24
- 50- Lovelock JD, Monasky MM, Jeong EM, et al. Ranolazine improves cardiac diastolic dysfunction through modulation of myofilament calcium sensitivity. *Circ Res.* 2012 Mar 16;110(6):841-50

- 51- Horowitz JD, Chirkov YY. Perhexiline and hypertrophic cardiomyopathy: A new horizon for metabolic modulation. *Circulation* 2010;122:1547–1549
- 52- Kennedy JA, Unger SA, Horowitz JD. Inhibition of carnitine palmitoyltransferase-1 in rat heart and liver by perhexiline and amiodarone. *Biochem Pharmacol.* 1996;52:273–280
- 53- Husted SE, Ohman EM. Pharmacological and emerging therapies in the treatment of chronic angina. *Lancet* 2015; 386:691-701
- 54- Ashrafian H, Horowitz JD, Frenneaux MP. Perhexiline. *Cardiovasc Drug Rev.* 2007 Spring;25(1):76-97
- 55- Hudsmith LE, Neubauer. Magnetic Resonance Spectroscopy in Myocardial Disease. *JACC Cardiovasc Imaging* 2009; 2(1):87-96
- 56- Atkuri, Kondala R., Mantovani John J et al. N-acetylcysteine - a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Curr Opin Pharmacol.* 2007 Aug; 7(4): 355–359
- 57- Takimoto E, Kass DA. Role of oxidative stress in cardiac hypertrophy and remodeling. *Hypertension.* 2007;49:241–248
- 58- Liao JK, Laufs U. Pleiotropic effects of statins. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2005;45:89–118
- 59- Simko F. Statins: a perspective for left ventricular hypertrophy treatment. *Eur J Clin Invest.* 2007 Sep;37(9):681-91
- 60- Axelsson A, Iversen K, Vejlstrup N, et al. Efficacy and safety of the angiotensin II receptor blocker losartan for hypertrophic cardiomyopathy: the INHERIT randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015 Feb;3(2):123-31
- 61- Hammond SM, Wood MJ. Genetic therapies for RNA mis-splicing diseases. *Trends Genet.* 2011 May;27(5):196-205
- 62- Wally V, Murauer EM, Bauer JW. Spliceosome-Mediated Trans-Splicing: The Therapeutic Cut and Paste. *J Invest Dermatol.* 2012 Aug;132(8):1959-66